
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

VIRGILIO BOTTE, CARLO BASILE

**Le esterasi aspecifiche del fegato di alcune specie di
vertebrati non-mammiferi. Comportamento
elettroforetico nei due sessi**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 59 (1975), n.5, p. 505–507.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1975_8_59_5_505_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Endocrinologia. — *Le esterasi aspecifiche del fegato di alcune specie di vertebrati non-mammiferi. Comportamento elettroforetico nei due sessi* (*). Nota di VIRGILIO BOTTE e CARLO BASILE, presentata (**) dal Socio G. MONTALENTI.

SUMMARY. — The nonspecific liver esterases of some representatives of vertebrate classes have been analysed by vertical starch gel electrophoresis. The enzyme showed a molecular heterogeneity and a species-specific resolution pattern. Some sex-related differences in the relative activity of some isozymes, moreover, have been observed in the species examined.

In *Rana esculenta*, *Lacerta s. sicula* and *Gallus domesticus*, experiments of gonadectomy and/or hormonal therapy with sex hormones showed that the sex-related pattern could be under gonadal endocrine control.

Le esterasi aspecifiche, estratte dal sangue o dai tessuti di alcuni vertebrati non-mammiferi, vengono frazionate con la elettroforesi in un complesso di isoenzimi che assume caratteristiche peculiari in ciascuna specie (Sprague, 1967; Holnes *et al.*, 1968; Botte e Basile, 1973 a e b). Nel rene di alcune specie di anfib e del selaco *Scylliorhinus stellaris* l'enzima mostra significative differenze nei due sessi che consistono talora in un numero differente di isoenzimi ma più frequentemente in una maggiore attività di alcune frazioni in uno dei due sessi (Botte e Basile, 1973 a e b). Poiché aspetti simili sono stati messi in evidenza anche in alcune specie di mammiferi (cfr. Li *et al.*, 1959), è probabile che in tutti i vertebrati siano presenti nella composizione delle esterasi aspecifiche delle differenze correlate al sesso.

Per valutare la consistenza di tale ipotesi abbiamo studiato il comportamento elettroforetico delle esterasi aspecifiche estratte dal fegato di alcuni rappresentanti delle principali classi di vertebrati non-mammiferi. Le nostre osservazioni sono state condotte sui teleostei *Blennius sanguinolentus* e *Gobius paganellus*; sugli anfib *Rana esculenta* e *Triturus cristatus carnifex*; sulla lucertola *Lacerta s. sicula* e sul pollo *Gallus domes icus*.

Il fegato, escisso subito dopo l'uccisione dell'animale e lavato abbondantemente in soluzione isotonica a freddo per allontanare ogni traccia di sangue, era omogeneizzato in acqua distillata (1 gr di tessuto fresco/10 ml di acqua). Gli omogenati venivano congelati e scongelati cinque volte e quindi centrifugati a 4 °C per 60 min a 21.000×g. I sopranatanti, portati alla stessa concentrazione proteica, erano sottoposti a separazione elettroforetica su gel

(*) Lavoro eseguito presso l'Istituto e Museo di Zoologia, Facoltà di Scienze dell'Università di Napoli con un contributo del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

(**) Nella seduta del 15 novembre 1975.

di amido nell'apparato verticale descritto da Smithies (1955; 1959) in un sistema continuo di buffer fosfato. Il gel era preparato con amido idrolizzato Connaught alla concentrazione del 14 % in buffer borato 0.03 M, pH 8.6. Nelle camere degli elettrodi si poneva buffer borato 0.3 M allo stesso pH. La corsa elettroforetica era di 18 h a 4 °C utilizzando una corrente costante di 4.5 volts/ cm. Di ciascun supernatante erano immerse nelle slitte aliquote di 40 µl. Le proteine erano dosate con il metodo di Lowry *et al.* (1951).

L'attività enzimatica veniva rivelata direttamente sulle piastre elettroforetiche, secondo il metodo descritto in precedenza (Botte e Basile, 1973 a). Le piastre elettroforetiche venivano successivamente fotografate e disegnate e quindi conservate in una miscela di acqua e glicerina (1 : 1) a freddo.

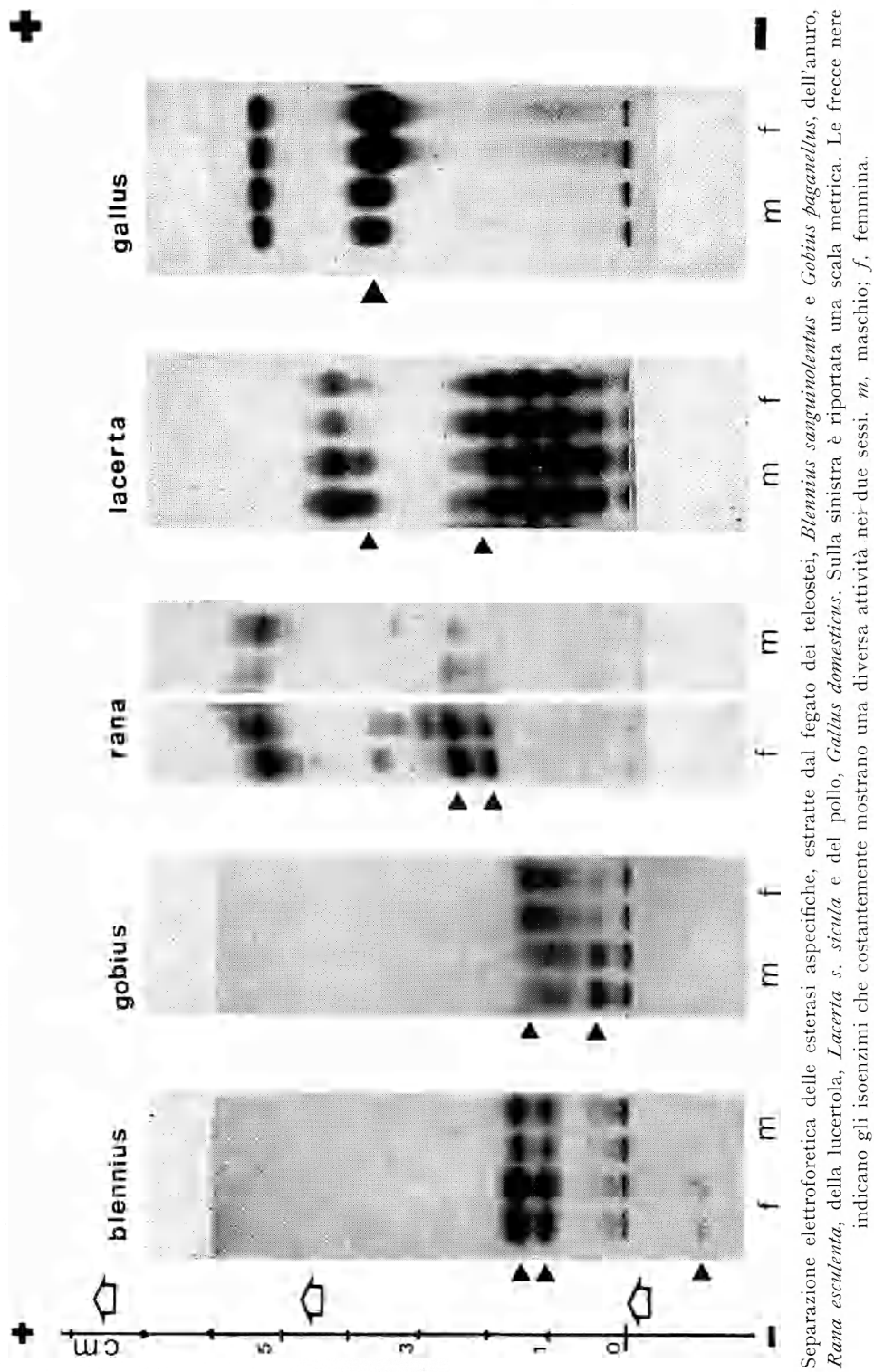
Nella Tav. I, sono riportati i risultati ottenuti. È evidente che delle differenze dell'attività di alcuni isoenzimi, correlate al sesso, sono riscontrabili in tutte le specie esaminate (vedi frecce). Solo nel caso del tritone le esterasi sono risolte in due bande complesse che migrano molto verso l'anodo e non mostrano una diversa attività nei due sessi (non riportato in fotografia).

Dal confronto dei tracciati elettroforetici non è possibile desumere alcuna particolare affinità filogenetica tra i rappresentanti dei vari gruppi di vertebrati.

La risoluzione elettroforetica delle esterasi è stata studiata anche su rane e lucertole gonadectomizzate e trattate con ormoni sessuali. Nella rana la ovariectomia determina una significativa diminuzione dell'attività relativa dei due isoenzimi più cospicui nella femmina. Questi vengono, al contrario, indotti nei maschi interi e nelle femmine ovariectomizzate in seguito alla somministrazione dell'estradiolo (0.4 mg di estradiolo-benzoato Shering, sciolti in 0.4 ml di olio di sesamo, inoculati per via intramuscolare in dosi settimanali di 50 µg). L'inoculazione di una dose uguale di testosterone o di progesterone è stata senza effetto. Nella lucertola l'asportazione delle gonadi è seguita dalla diminuzione dell'attività di tutti gli isoenzimi sia nel maschio che nella femmina. La somministrazione dell'estradiolo alle femmine ovariectomizzate e del testosterone ai maschi castrati (alle dosi prima indicate) induce l'aumento dell'attività di buona parte degli isoenzimi ma non ristabilisce del tutto le caratteristiche degli animali interi.

L'analisi elettroforetica delle esterasi è stata condotta anche sul fegato di pulcini di 15 giorni di età. La separazione ottenuta è identica a quella dell'adulto, ma gli isoenzimi sono meno attivi. La somministrazione ai pulcini dell'estradiolo e del testosterone, secondo le modalità e le dosi prima riportate, induce in entrambi i sessi un notevole aumento dell'attività dell'isoenzima meno mobile. Questo effetto è più evidente negli animali trattati con estradiolo.

Non è noto, allo stato attuale, il significato delle differenze correlate al sesso nella separazione elettroforetica delle esterasi aspecifiche. Poiché il fegato della femmina dei vertebrati che producono uova meso- e telolecitiche è direttamente impegnato nella sintesi di fosfolipoproteine che entrano nella composizione del vitello, non è da escludere che gli isoenzimi la cui attività



è modificata dall'ovariectomia e dalla somministrazione dell'estradiolo siano interessati alla elaborazione di queste proteine. È stato dimostrato, poi, che questa funzione del fegato è sotto il controllo diretto degli ormoni sessuali e soprattutto dell'estradiolo.

Nel pulcino l'enzima è indotto sia dall'estradiolo che dal testosterone. Gli effetti ottenuti con quest'ultimo ormone nella femmina potrebbero essere legati ad una conversione *in vivo* del testosterone in estradiolo o a una particolare azione diretta dell'ormone sui sistemi di regolazione dell'esterasi in questa specie.

BIBLIOGRAFIA

- BOTTE V. e BASILE C. (1973) - «Atti Accad. Naz. Lincei, Rend. Cl. Sci. fis. mat. nat.», 54, 653-659.
- BOTTE V. e BASILE C. (1973) - «Atti Accad. Naz. Lincei, Rend. Cl. Sci. fis. mat. nat.», 54, 967-969.
- HOLMES R. S., MASTERS C. J. e WEBB E. C. (1968) - «Comp. Biochem. Physiol.», 26, 837-852.
- LI J. J., KIRKMAN H. e HUNTER R. L. (1959) - «J. Histochem. Cytochem.», 17, 386-393.
- LOWRY O. H., ROSEBROUGH N. J., FARR A. L. e RANDALL R. J. (1951) - «J. biol. Chem.», 193, 265-275.
- SMITHIES O. (1955) - «Biochem. J.», 61, 629-641.
- SMITHIES O. (1959) - «Biochem. J.», 71, 585-587.
- SPRAGUE L. M. (1967) - «Hereditas», 57, 198-204.